

2) PDD における前頭葉機能異常を鋭敏に反映する指標を確立した (Kuwabara et al., 2006)。この指標を用いて、小児及び成人 PDD の各年齢層のデータを集積し、健常者では年齢とともに前頭葉機能が発達する様子を NIRS が捉えること、PDD ではその発達が障害されていること、健常同胞では健常対照と PDD の中間的な機能レベルであることを見出し、NIRS が PDD における脳機能発達レベルを縦断的にフォローする臨床指標として利用できる可能性を示唆した。

3) ADHD 児のメチルフェニデートの臨床効果を予測する生理指標を開発するため、NIRS を用いた認知課題の最適化を行い、stop signal task を用いた NIRS 計測法を確立した (特許出願準備中)。

D. 考察

single-case VBM 法、NIRS 法により、非侵襲的に PDD の補助診断法を確立することが出来た。ADHD については、自主臨床試験の承認を得たものの、その後メチルフェニデート (商品名リタリン) の ADHD 小児に対する投与が事実上不可能になり、徐放剤での試験デザインに切り替える必要が生じたため、期間内に結果を得ることが出来なかったが、ADHD の脳機能障害を鋭敏に捉える NIRS 検査法を確立した。

E. 結論

非侵襲脳計測である MRI・NIRS を用いて PDD と ADHD の診断・治療効果予測法を開発し、その見通しを得た。

G. 研究発表

1. 論文発表

Kawakubo Y, Kasai K, Okazaki S, Hosokawa-Kakurai M, Watanabe K, Kuwabara H, Ishijima M, Yamasue H, Iwanami A, Kato N, Maekawa H: Electrophysiological abnormalities of spatial attention in adults with autism during the gap overlap task. *Clin Neurophysiol* 118: 1464-1471, 2007.

Kuwabara H, Kasai K, Takizawa R, Kawakubo Y, Yamasue H, Rogers MA, Ishijima M, Watanabe K, Kato N: Decreased prefrontal activation during letter fluency task in adults with pervasive developmental disorders: a near-infrared spectroscopy study. *Behav Brain Res* 172: 272-277, 2006.

Yamasue H, Ishijima M, Abe O, Sasaki T, Yamada H, Suga M, Rogers MA, Minowa I, Someya T, Kurita H, Aoki S, Kato N, Kasai K: Neuroanatomy in monozygotic twins with Asperger's disorder discordant for comorbid depression. *Neurology* 65: 491-492, 2005.

Kasai K, Hashimoto O, Kawakubo Y, Yumoto M, Kamio S, Itoh K, Koshida I, Iwanami A, Nakagome K, Fukuda M, Yamasue H, Yamada H, Abe O, Aoki S, Kato N: Delayed automatic detection of change in speech sounds in adults with autism: a magnetoencephalographic study. *Clin Neurophysiol* 116: 1655-1664, 2005.

2. 学会発表

笠井清登．広汎性発達障害における神経画像研究の現状と展望．第37回日本臨床神経生理学会、講演、宇都宮、2007年11月22日

笠井清登、川久保友紀、桑原斉、山末英典：自閉症スペクトラム障害の神経画像．第30回日本神経科学大会、シンポジウム、横浜、2007年9月12日

川久保友紀、桑原斉、笠井清登：自閉症スペクトラム障害の脳機能画像．第36回日本臨床神経生理学会、シンポジウム、横浜、2006年11月30日

Kuwabara H, Kasai K, Kawakubo Y, Kato N: Assessment of prefrontal cortical function in pervasive developmental disorders using near-infrared spectroscopy. 13th International Congress on European Society for Child and Adolescent Psychiatry, Florence, Italy, August 26, 2007

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

生体光計測装置における刺激課題呈示装置（平成20年3月出願予定）

発達障害における行動表現型に関する研究

分担研究者 金生由紀子 東京大学医学部附属病院「こころの発達」診療部 特任准教授
研究協力者 渡辺慶一郎、金樹英、桑原斉

研究要旨：

発達障害の診断分類では広汎性発達障害(pervasive developmental disorders: PDD)と注意欠陥多動性障害(Attention-deficit hyperactivity disorder: ADHD)とは併存しないという定義になっているが、実際には自閉症状と ADHD 症状を併せ持っている場合が多く、両者の関係を検討する必要がある。

そこで、明確な知的遅れを伴わない発達障害児 21 名で、自閉症状を評価する改訂行動質問票(child behavior questionnaire revised: CBQ-R)と ADHD 症状を評価する ADHD-RS-IV を用いて自閉症状と ADHD 症状との関係を予備的に検討したところ、2つの症状尺度の得点間に相関は認めず、独立した症状であることが示された。また、両者の組み合わせによって他の行動症状が異なる可能性が示唆された。しかし、明確な知的遅れを伴わない患児 71 名で体系的にデータを収集して解析したところ、この所見は十分には確認できなかった。さらにデータの蓄積を続けて、患児 163 名について検討したところ、自閉症状、特に対人的相互反応の質的障害及びコミュニケーションの質的障害が ADHD 症状、特に不注意と独立していることがより明確に示された。子どもの行動チェックリスト(CBCL)による行動症状をみると、自閉症状はひきこもり及び不安/抑うつと、また、ADHD 症状は攻撃性の問題と、特に親和性が高いと思われた。

A. 研究目的

DSM-IV-TR では広汎性発達障害(PDD)であれば注意欠陥多動性障害(ADHD)ではないと定義されており、ICD-10 でもほぼ同様である。しかし、実際には、多くの発達障害児が自閉症状と ADHD 症状を併せ持っている。特に、知的な遅れがないか軽度であり、不注意や多動性や衝動性をいくらか示すと同時に何らかの対人関係の問題を有する場合には、診断が容易ではない。発達障害における自閉症状と ADHD

症状との関係を検討することは、より正確な診断のみならず行動表現型の抽出にも重要と思われる。そこで、本研究では、主として明確な知的な遅れを伴わない発達障害児を対象にデータを蓄積し、自閉症状と ADHD 症状との関連を中心に検討した。

B. 研究方法

平成 17 年度は北里大学病院精神神経科を平成 17 年 4 月から 10 月に初診した 15

歳以下の発達障害児 21 名のデータを解析した。平成 18 年度、19 年度は東京大学医学部附属病院「こころの発達」診療部を平成 18 年 4 月以降に初診した患者について診療で得られたデータを体系的に収集して解析した。いずれの場合も、対象は、(1)明確な知的遅れを伴わない(特殊学級に通っておらず、文章を話す)、(2)4~16 歳という条件を満たしていた。評価バッテリーには、改訂行動質問票(CBQ-R)、ADHD-RS-IV、子どもの行動チェックリスト(CBCL)という 3 種類の質問紙が含まれていた。「こころの発達」診療部では初診にあたってこれらへの記入をすべての親に依頼している。CBQ-R は自閉症でよく見られる症状を尋ねており、45 項目中 19 項目は自閉症の 3 主徴に対応する。4 段階評定の中で「少し目立つ」以上の「有り」をすべて 1 点として 32 項目で合計した得点で 13/14 が自閉症のカットオフという。ADHD-RS-IV は ADHD 症状について尋ねており、不注意と多動性—衝動性に分けて得点が得られ、総得点が 16 点以上で ADHD の疑いが強いという。CBCL は多様な行動症状について尋ねている。また、継続的に通院している者については、薬物療法の有無及びその内容を調査した。なお、研究のみを目的としたデータの収集を行わなかった。

C. 研究結果

1. 平成 17 年度

発達障害児 21 名(平均 7.9 歳; 男 17 名、女 4 名)の初診時診断は、PDD が 8 名、ADHD が 10 名、その他の発達障害が 3 名であった。自閉症状と ADHD 症状の相互の関連を検討するために、CBQ-R 得点と

ADHD-RS-IV 得点の相関をみると、CBQ-R の 32 項目合計得点は、ADHD-RS-IV の不注意得点、多動性—衝動性得点、総得点のいずれとも有意な相関を認めなかった。CBQ-R 得点と ADHD-RS-IV 得点の組み合わせから、両低得点群 3 名、低 CBQ-R/高 ADHD-RS-IV 群 3 名、両高得点群 5 名に分けると、CBCL の下位尺度の中で不安/抑うつ得点は両高得点群で最も高く(平均 66.4 点)、攻撃的行動得点は低 CBQ-R/高 ADHD-RS-IV 群と両高得点群共に高かった(平均 72.3 点, 平均 69.4 点)。

2. 平成 18 年度

平成 18 年 4 月から 11 月に初診して条件を満たす外来患者 71 名(平均 10.1 歳; 男 52 名、女 19 名)の初診時診断は、PDD が 23 名、ADHD が 12 名、チック障害(PDD 及び ADHD を伴わない)が 22 名、その他が 14 名であった。PDD または ADHD 計 35 名で CBQ-R と ADHD-RS-IV との相関をみると、CBQ-R のコミュニケーション障害の 7 項目の得点は、ADHD-RS-IV の不注意得点、多動性—衝動性得点、総得点のいずれとも有意に相関しなかった。対人関係障害の 6 項目の得点及び興味と活動の偏りの 6 項目の得点は、不注意得点と有意に相関しなかった。CBQ-R 得点と ADHD-RS-IV 得点のカットオフの組み合わせから、両低得点群 10 名、低 CBQ-R/高 ADHD-RS-IV 群 13 名、高 CBQ-R/低 ADHD-RS-IV 群 3 名、両高得点群 9 名に分けると、CBCL の下位尺度、内向尺度、外向尺度及び総得点はこの 4 群間で大差はなかった。

3. 平成 19 年度

平成 18 年 4 月から平成 19 年 8 月に初

診して条件を満たす外来患者 163 名（平均 9.7 歳；男 123 名、女 40 名）初診時診断は、PDD が 70 名、ADHD が 22 名、チック障害(PDD 及び ADHD を伴わない)が 45 名、その他が 26 名であった。

PDD、ADHD、チック障害の 3 群間では、CBQ-R の 32 項目合計得点、コミュニケーション障害得点、対人関係障害得点、興味と活動の偏り得点、随伴問題行動の 13 項目の得点のいずれについても有意差が認められ、チック障害で低かった ($p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.003$, $p=0.000$, 分散分析)。さらに、PDD と ADHD の間で Tukey の多重比較をすると、32 項目合計得点、コミュニケーション障害得点、対人関係障害得点、興味と活動の偏り得点で有意に近い差を認めたが ($p=0.089$, $p=0.068$, $p=0.055$, $p=0.087$)、随伴問題行動得点では大差がなかった。ADHD-RS-IV の不注意得点、多動性-衝動性得点、総得点についても 3 群間で有意差が認められ、チック障害で低かった ($p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.000$, 分散分析)。PDD と ADHD とで多重比較をすると、不注意得点で有意差を認めたが ($p=0.011$)、多動性-衝動性得点では大差がなかった。

PDD または ADHD 計 82 名で CBQ-R と ADHD-RS-IV との相関をみると、CBQ-R の対人関係障害得点は、ADHD-RS-IV の不注意得点、多動性-衝動性得点、総得点のいずれとも有意に相関しなかった。(表 1) CBQ-R のコミュニケーション障害得点も、ADHD-RS-IV の不注意得点及び総得点と有意な相関がなかった。

CBQ-R 得点と ADHD-RS-IV 得点のカットオフの組み合わせから、両低得点群 20 名、低 CBQ-R/高 ADHD-RS-IV 群 37 名、高 CBQ-R/

低 ADHD-RS-IV 群 11 名、両高得点群 24 名に分けると、CBCL の下位尺度のひきこもり、社会性の問題、思考の問題、注意の問題、非行的行動、攻撃的行動の各得点に加えて、内向尺度、外向尺度及び総得点で有意差を認めた ($p=0.002$, $p=0.004$, $p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.004$, $p=0.003$, $p=0.015$, $p=0.001$, $p=0.000$, 分散分析) (表 2)。下位尺度の中でも、ひきこもり及び不安/抑うつ得点は、高 CBQ-R/低 ADHD-RS-IV 群でのみ病理域であった。社会性の問題及び思考の問題の得点は、高 CBQ-R/低 ADHD-RS-IV 群または両高得点群で病理域または境界域であった。注意の問題は両低得点群以外はすべて境界域以上であり、特に両高得点群で病理域であった。攻撃的行動及び外向尺度得点は、低 CBQ-R/高 ADHD-RS-IV 群及び両高得点群で境界域であった。

平成 18 年度に初診をして診断が再検討された 60 名について、PDD における ADHD 症状の影響をさらに検討するために低 ADHD-RS-IV/PDD 群 20 名、高 ADHD-RS-IV/PDD 群 28 名、ADHD 群 12 名の 3 群で比較したところ、CBQ-R では、32 項目の合計得点、興味と活動の偏り及び随伴問題行動得点は 3 群間で有意差があり ($p=0.022$, $p=0.007$, $p=0.003$, 分散分析)、高 ADHD-RS-IV/PDD 群で最も高かったが、コミュニケーション障害及び対人関係障害の各得点は 3 群間で大差なかった。また、低 ADHD-RS-IV/PDD 群と高 ADHD-RS-IV/PDD 群とで多重比較をすると、32 項目の合計得点及び随伴問題行動得点で有意差があった ($p=0.047$, $p=0.002$)。60 名中で継続的に通院した 48 名について薬物療法の有無をみたところ、低

ADHD-RS-IV/PDD群で17名中5名(29.4%)、高ADHD-RS-IV/PDD群で20名中8名(40%)、ADHD群で11名中10名(90.9%)であり、有意差を認めた($p=0.004$, χ^2 -test)。

D. 考察

予備的検討を経て体系的にデータの蓄積を続けてきた結果、児童精神医療を求める患者では、当然ながらPDD及びADHDはチック障害よりも自閉症状及びADHD症状が有意に高率であるが、PDDとADHDの間では多動性、衝動性を含めた自閉症に随伴する問題行動については大差がないことが確認された。

PDDまたはADHDについて、自閉症状とADHD症状との相互の関連の検討から、自閉症状、特に対人的相互反応の質的障害及びコミュニケーションの質的障害がADHD症状、特に不注意と独立していることがより明確に示された。

自閉症状とADHD症状という2つのディメンジョンの組み合わせで行動特徴を検討したところ、CBCLによる行動症状に相違が認められた。すなわち、自閉症状のみが強くADHD症状が弱い場合には、ひきこもり及び不安/抑うつが強かった。ADHD症状の強弱にかかわらず自閉症状が強い場合には社会性の問題及び思考の問題が強かった。自閉症状の強弱にかかわらずADHD症状が強い場合には攻撃性の問題が強かった。従って、自閉症状はひきこもり及び不安/抑うつと、また、ADHD症状は攻撃性の問題と、特に親和性が高いと思われた。

診断とADHD症状を組み合わせた検討からは、明確な知的な遅れのないPDDでは知的な遅れのある典型的な自閉症のよう

には対人的相互反応の質的障害及びコミュニケーションの質的障害が把握しづらいことが示された。同時に、興味と活動の偏りがADHD症状の強いPDDで特に強かったことは、この症状が他の2つの自閉症状とはやや独立していることを示唆していると思われた。PDDの中でみると有意水準に達しなかったもののADHD症状が強い場合に興味と活動の偏りが強くなるということは、衝動性と強迫性を併せ持ちやすくなるということかもしれない。

本研究から自閉症状、ADHD症状というディメンジョンに分けた検討の有用性が示された。

自閉症状については、興味と活動の偏りがより独立している可能性が示唆され、より細かい症状別の検討が望まれるが、そのためには症例数が不十分であった。また、明確な知的な遅れを伴わずかつ非定型な者も含んだ場合にPDD全体としてのカCBQ-Rのカットオフについて再検討の余地があると思われた。

今後は、さらに症例数を増やして自閉症の3主徴別を含めたより詳細な検討をすることも課題である。

E. 結論

主として明確な知的遅れを伴わない4～16歳の発達障害児を対象にして、診療で得られた質問紙のデータなどを収集、解析して検討を加えた。

PDDまたはADHDについて自閉症状を評価するCBQ-Rの得点とADHD症状を評価するADHD-RS-IVの得点との相関をみると、自閉症状、特に対人的相互反応の質的障害及びコミュニケーションの質的障害がADHD症状、特に不注意と独立しているこ

とがより明確に示された。

自閉症状と ADHD 症状の組み合わせで CBCL による行動症状をみると、自閉症状のみが強く ADHD 症状が弱い場合には、ひきこもり及び不安/抑うつが強かった。自閉症状の強弱にかかわらず ADHD 症状が強い場合には攻撃性の問題が強かった。自閉症状はひきこもり及び不安/抑うつと、また、ADHD 症状は攻撃性の問題と、特に親和性が高いと思われた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

金生由紀子: チック障害とトゥレット症候群について. 臨床精神医学特大号, 36(5): 553-557, 2007.

金生由紀子: 習癖・チック・トゥレット障害. 母子保健情報, 55: 1-5, 2007.

桑原斉, 金生由紀子, 加藤進昌: 発達障害の生物学的研究の現状とわが国における研究の方向性. 脳と精神の医学 17(1): 341-351, 2006.

金生由紀子: 高機能広汎性発達障害. 臨床精神医学 35(8): 1143-1145, 2006.

金生由紀子: 児童期精神医学の現在. 医学のあゆみ 217(10): 923-927, 2006.

金生由紀子: ADHD の子どもへの発達支援. 教育と医学 54(5): 437-444, 2006.

金生由紀子: 広汎性発達障害の乳幼児と家族をめぐるこころの問題. 小児内科, 38(1):39-41, 2006.

Ohta M, Kano Y, Nagai Y : Catatonia in individuals with autism spectrum disorders in adolescence and early adulthood: A long-term prospective study. International Review of Neurobiology, 72: 41-54, 2006.

金生由紀子: トウレット症候群の遺伝研究. 脳と精神の医学, 16(3): 151-160, 2005.

2. 学会発表

Kano Y, Kono T, Shishikura K, Konno C, Kuwabara H, Ohta M: Impact of tics, obsessive-compulsive symptoms, and impulsivity toward adjustment and pharmacotherapy in patients with Tourette syndrome. International Scientific Symposium on Tourette Syndrome, 2007. 6. 21-23, Lillehammer, Norway.

Kano Y, Kono T, Shishikura K, Konno C, Kuwabara H, Ohta M: Relationship of tics, obsessive-compulsive symptoms, and impulsivity in patients with Tourette syndrome. ESCAP XIII International Congress, 25 - 29 August, 2007, Florence, Italy

Kano Y, Kohno T, Shishikura K, Konno C, Kuwabara H, Hisamura M, Ohta M: Study of obsessive-compulsive symptoms by dimensional approach in Tourette' syndrome and chronic tic disorder. 17th world congress of the international association for child and

adolescent psychiatry and allied professions
(IACAPAP), 9. 10-14, 2006, Melbourne,
Australia.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1: CBQ-RとADHD-RS-IVとの相関

	ADHDRS_AD	ADHDRS_Hyp	ADHDRS_T
CBQR_1_32	.208 *	.363 ***	.294 **
CBQR_1_45	.272 **	.385 ***	.337 **
CBQR_1_7	.004	.242 *	.127
CBQR_8_13	.120	.120	.096
CBQR_14_19	.201	.356 **	.307 **
CBQR_20_32	.314 **	.423 ***	.389 ***
CBQR_20_45	.384 ***	.447 ***	.433 ***

ADHDRS_AD: 不注意得点 ADHDRS_Hyp: 多動性・衝動性得点

ADHDRS_T: 総得点

CBQR_1_32: 32項目合計得点 CBQR_1_45: 45項目合計得点

CBQR_1_7: コミュニケーション障害得点 CBQR_8_13: 対人関係障害得点

CBQR_14_19: 興味と活動の偏り得点 CBQR_20_32: 随伴問題行動得点

CBQR_20_45: 随伴問題行動得点(拡大)

Spearmanの相関係数 ***: p=0.000 **: p<0.01 *: p<0.05

表2: CBQ-RとADHD-RS-IVの組み合わせによる4群におけるCBCLのT値

	両低 両症状弱 N=18		低CBQ高ADHD ADHD症状のみ強 N=35		高CBQ低ADHD 自閉症状のみ強 N=10			両高 両症状強 N=24				
	平均値	SD	平均値	SD	平均値	SD	b)	平均値	SD	b)	a)	
I ひきこもり	59.5	8.2	63.2	7.6	<u>72.8</u>	10.7	**	66.5	10.4	*	**	
II 身体的訴え	55.7	6.7	55.7	7.8	62.7	15.8		60.7	9.3		+	
III 不安/抑うつ	59.8	10.0	63.8	9.1	<u>70.5</u>	14.7	+	65.4	10.1		+	
IV 社会性の問題	62.7	9.8	66.7	9.0	<u>68.4</u>	7.8		<u>73.5</u>	10.8	**	**	
V 思考の問題	54.4	4.9	64.6	10.3	**	<u>74.4</u>	13.0	***	<u>69.9</u>	10.9	***	***
VI 注意の問題	58.6	7.0	<u>68.6</u>	6.3	***	<u>67.2</u>	6.8	*	<u>72.3</u>	8.6	***	***
VII 非行的行動	57.5	8.1	63.1	10.0		58.2	8.2		<u>67.5</u>	9.2	*	**
VIII 攻撃的行動	58.0	8.3	<u>67.7</u>	9.5	**	60.9	10.6		<u>67.8</u>	11.5	*	**
内向尺度	59.6	9.6	63.8	8.3		<u>71.2</u>	13.0	*	66.0	8.9		*
外向尺度	56.4	10.6	<u>68.4</u>	10.6	**	59.4	13.1		<u>69.6</u>	12.4	**	**
総得点	59.8	9.9	<u>68.5</u>	6.6	**	<u>70.1</u>	11.3	*	<u>72.7</u>	9.8	***	***

a): 4群間の比較(分散分析) b): 両低群と各群との比較(多重比較: Tukey) ***: p=0.000 **: 0<0.01 *: p<0.05 +: p<0.1
太字下線: 病理域 太字斜体: 境界域

広汎性発達障害の分子遺伝学的研究に関する研究

分担研究者 難波栄二 鳥取大学生命機能研究支援センター 教授

研究要旨；

自閉症の遺伝的背景について研究を行った。まず、HOX 遺伝子群のアミノ酸リピートに注目して解析を進めた。HOXA2、HOXD8、HOXD13 遺伝子に関して、自閉症 100 例以上、その家族 200 例以上、正常対象 350 例以上について解析した。HOXA2 では自閉症の患者および家系にのみ多型を示す例があり、今後さらに検討が必要と考えられた。次にヒスチジンの長さの多型をもつ HOXA1 遺伝子により細胞機能が障害され、神経分化の異常が引き起こされることが明らかになった。この多型は精神神経疾患の新たな原因になる可能性が示された。また、自閉症状を呈するレット症候群 40 検体のうち解析可能な 12 検体について MECP2 遺伝子ならびに DLX5 遺伝子のアレル特異的な発現を検討した。MBD 内に変異を有する検体では変異 MECP2 アレルの発現が低いことから、この変異は細胞の増殖を抑制することが示唆された。また、TRD 内に変異のあり変異アレルの発現が高い検体では DLX5 遺伝子が両アレルで発現しており、刷り込み異常が示唆された。最後に、自閉症におけるエピジェネティクスの関与に着目し、今までに関連が示唆された 151 遺伝子のメチル化解析を行った。その結果、メチル化に個体差のみられる遺伝子は 38 存在し、これらの中で自閉症検体と正常対象の検体でメチル化の程度に差がある遺伝子を見出した。さらに、リアルタイム PCR 法によって比較したところ、2 遺伝子では自閉症検体の方が遺伝子発現が低下しており、3 遺伝子については遺伝子発現が高い傾向を認めた。これらの遺伝子と自閉症との関連をさらに検討し、診断法や治療法につなげてゆく予定である。

A. 研究目的

我々は、東海大学、東京大学と共同で自閉症の遺伝的背景の解析を行っている。本研究では、まず HOX 遺伝子群に存在するアミノ酸のリピート構造の解析の研究を進めた。次に、正常および自閉症検体に見いだされたヒト HOXA1 遺伝子内のヒスチジン長多型の検討を行い、核内凝集体形成および神経分化に対する興味深い

知見を得たので報告する。また、自閉症状を特徴の一つとするレット症候群の研究も行った。レット症候群は、methyl-CpG-binding protein 2 (MECP2) 遺伝子の変異によって生じる X 連鎖性優性遺伝の進行性神経疾患で女兒に発症する。MECP2 遺伝子はメチル化 CpG 結合ドメイン (MBD) ならびに転写抑制ドメイン (TRD) を有し、転写抑制に重要な役割を

担っている。近年、この MECP2 遺伝子の標的として、父性に刷り込みを受ける distal-less homeo box 5 (DLX5) 遺伝子が明らかとなり、Mecp2 欠損マウスならびに患者由来リンパ芽球細胞において DLX5 遺伝子の刷り込み異常が報告された。DLX タンパク質は神経伝達物質である抑制性 γ-アミノ酪酸 (GABA) を合成する GAD67 の発現を誘導することや、GABA 作動性ニューロンの神経分化への関与が示唆されていることなどから、本疾患の発症機構の一つとして着目されている。今回は、DLX5 遺伝子の刷り込み異常を誘引する MECP2 遺伝子の変異タイプと DLX5 遺伝子の刷り込み異常の関係を検討した。最後に、自閉症の発症機構としてエピジェネティクスに注目して研究を進めた。DNA メチル化はエピジェネティクスの中でもよく知られている遺伝子発現制御機構の一つであり、精神疾患の発症機構としても着目されている。自閉症では、7 番、9 番、15 番染色体で親由来の連鎖不均衡を示す領域が存在することや、これらの領域の CNV (copy number variation) が自閉症に関連する可能性が報告されている。これらの領域には、エピジェネティクスのメカニズムの一つであるゲノム刷り込み遺伝子が多く存在している。さらに、15q13 染色体領域の母方由来の部分的重複が自閉症で多いという報告もある。我々は、このエピジェネティクスの中でも特に DNA メチル化に着目し、自閉症におけるエピジェネティクスな異常を明らかにすることを目的として網羅的なメチル化解析を行った。

B. 研究方法

材料

東海大学において樹立された自閉症の子供をもつ 110 家系のリンパ芽球様細胞株 (219 検体：子:93、母:62、父:64、全て日本人) およびリンパ球 (33 検体：子:3、母:14、父:16、全て日本人) より樹立した芽球化細胞株を培養し、DNA および RNA を抽出した。また、東京大学および鳥取大学で樹立した正常ヒトリンパ芽球様細胞株 (368 検体) を正常コントロールとして用いた。

HOX 遺伝子に存在するアミノ酸リピート構造の解析

1) PCR

PCR 溶液は、10 μl 中に、DNA (100ng, 50ng, 25ng, 12.5ng, 10ng, 2.5ng, 0.625ng, 0.3125ng, 0.15625ng)、1×PCR buffer、0.25mM dNTPs、5pmol 4F プライマー、Cy5-4F プライマー (3pmol, 2pmol, 1pmol)、10pmol 1R プライマー、0.5U Ampli Taq Gold が含まれるように調整した。PCR は iCycler (BIO RAD) を用いて、95°C で 5min 加熱した後、(95°C 1min, 各遺伝子のアニーリング温度 1min, 72°C 1min) のサイクルを 35 回繰り返す、最後に 72°C 5min で加熱する条件で行った。PCR 産物はアガロースゲル (1% Agarose S, 1% Nusieve) 電気泳動でそのサイズを確認した。分子量マーカーには Marker4 (φ X174/HaeIII) を用いた。PCR 産物は 12°C で保存した。

2) フラグメントサイズの解析

ゲルは 50ml 中に 6% HydroLink LongRanger、6M Urea、 $1.2 \times$ TBE (1M Tris-HCl, 0.83M Boric Acid, 10mM EDTA Na2) が含まれるように調整し、厚さ 0.35mm のものを作成した。PCR 産物 $2 \mu\text{l}$ に変性剤 $8 \mu\text{l}$ を加え、 95°C で 5min の熱変性処理をした後氷中で急冷却し、その $5 \mu\text{l}$ を電気泳動のサンプルとした。ALFred DNA Sequencer (Pharmacia) を用いて、 $0.6 \times$ TBE で 1200V、26mA、45W、 47°C 、480min の条件で電気泳動を行った。泳動後はソフトウェア AlleleLinks を用いて PCR 産物の長さの解析を行った。

3) PCR 産物のサブクローニング

PCR 溶液には、 $10 \mu\text{l}$ 中に 10–30ng DNA、 $1 \times$ PCR buffer、0.25mM dNTPs、10pmol 4F プライマー、10pmol 1R プライマー、0.1U Ampli Taq Gold が含まれるように調整した。PCR は iCycler (BIO RAD) を用いて、 95°C で 5min 加熱した後、 95°C 1min、 55°C 1min、 72°C 1min、のサイクルを 35 回繰り返す、最後に 72°C で 5min で加熱する条件で行った。この PCR 産物 $5 \mu\text{l}$ に T-vector $0.5 \mu\text{l}$ 、 $2 \times$ ligation buffer $4 \mu\text{l}$ 、T₄ ligase $1 \mu\text{l}$ を加え、 4°C で一晩反応させた。このサンプル $2 \mu\text{l}$ に氷中で融解させた Competent cell $25 \mu\text{l}$ を加え、氷中で 20min 放置した後、 42°C で 26sec の熱処理を行い、すぐに氷中に戻して 1min おいた。これに S. O. C $500 \mu\text{l}$ を加えて 37°C で 60min 保温した後、X-gal $50 \mu\text{l}$ 、IPTG $5 \mu\text{l}$ 、S. O. C $45 \mu\text{l}$ を塗布した LB-Amp Plate に $200 \mu\text{l}$ 、 $300 \mu\text{l}$ ずつ塗布して、 37°C で一晩保温した。

4) プラスミドの単離と精製

T-vector をもつ白のシングルコロニーを LB-Amp 培地 2ml に植え、 37°C で一晩振とう培養した。その後、アルカリ SDS 法の原理による自動プラスミド抽出機 PI-100 Σ (Kurabo) によりプラスミドを抽出した。このプラスミドに $100 \mu\text{l}$ の TE-Rnase (10mM Tris-HCl pH8.0, 1mM EDTA Na2, $50 \mu\text{g/ml}$ RNase) を加え、 37°C 、100rpm で振とうしながら 30–60min インキュベートした後、1.5ml チューブに移した。このサンプルを 12000rpm、5min、室温で遠心し、上清 $50 \mu\text{l}$ をマルチスクリーン PCR プレート (Millipore) に移し、マルチスクリーンバキュームマニホールド (Millipore) を用いて 20–25inch Hg で 5min 上清がなくなるまで吸引した。その後、 $100 \mu\text{l}$ の TE を加えて上清がなくなるまで吸引し、この操作を 2 回繰り返した。最後に $50 \mu\text{l}$ の TE (10mM Tris-HCl pH8.0, 1mM EDTA Na2) を加え、5min シェーカーで攪拌し (100rpm)、溶出した DNA を 4°C で保存した。

5) プラスミドのシーケンシング

シーケンス反応液には、 $10 \mu\text{l}$ 中に Terminator Ready Mix $4 \mu\text{l}$ 、精製プラスミド $1 \mu\text{l}$ 、SP6 プライマーまたは T7 プライマーが 4pmol 含まれるように調整した。反応は iCycler (BIO RAD) を用いて、 96°C 30sec、 50°C 15sec、 60°C 4min のサイクルを 25 回繰り返す条件で行った。Multiscreen Dye Terminator Removal Kit (Millipore) を用いて反応液中の余分な蛍光物質を除去し、ABI PRISM 3100 (Applied Biosystems) でそのシーケンスを解析した。

HOXA1 遺伝子のヒスチジン長多型の検討

ヒト HOXA1 cDNA 発現ベクターは C 末 Green fluorescence protein (GFP) 融合させた HOXA1 を CMV プロモーター下流に組み込んだ (pHOXA1-GFP)。トランスフェクションには培養 COS7 細胞またはヒト神経芽細胞腫細胞株 SK-N-SH にリポフェクション法により行った。HOXA1 転写活性の測定は pHOXA1、pPBX1、pAdMLAre をコントロールトランスフェクション後、ルシフェラーゼアッセイにより行った。オートファジー誘導はラパマイシンを、SK-N-SH 細胞の神経分化誘導はレチノイン酸をそれぞれ培養液に添加した。

レット症候群の検討

本邦におけるレット症候群患者由来のリンパ芽球細胞 40 検体を使用した。まずこれらの細胞のゲノム DNA を用いて、DLX5 遺伝子内に存在する C7/C8 の単一塩基リピートの多型を PCR 法で解析することにより多型を有する細胞を選出した。この多型を有する細胞を用いて、MECP2 遺伝子の変異アレルの発現ならびに DLX5 遺伝子の刷り込みの状態を RT-PCR 法ならびにダイレクトシーケンス法により解析した。

メチル化の検討

自閉症に関連する新規刷り込み遺伝子の同定と自閉症における DNA のメチル化状態の解析を目的に刷り込み候補遺伝子、自閉症の候補遺伝子および精神疾患等と関連が示唆されている合計 25 遺伝子の転写開始領域近傍に存在する CpG アイランドについて解析を行った。DNA のメチル化はバイサルファイトダイレクトシーケンス法により行った。解析には正常脳組織 5 検体、正常リンパ芽球 11 検体、自閉症患者由来リンパ芽球 16 検体を用いた。

解析対象となる遺伝子

連鎖解析で自閉症に関連することが複数の論文で報告されている 2 番、7 番、X 染色体、さらに染色体の部分重複が報告されている 15 番染色体長腕の領域で脳の機能に重要と考えられる 151 遺伝子を対象とした (図 1)。

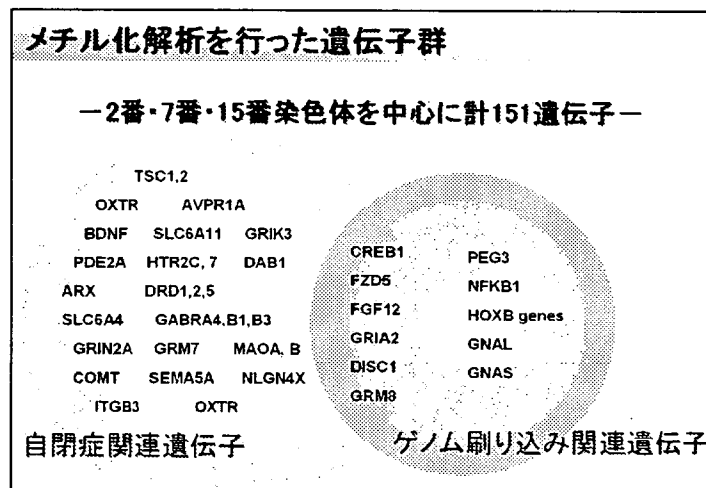


図 1

DNA メチル化解析

151 遺伝子のプロモーター領域近辺に位置する CpG アイランドのメチル化様式を、bisulfite direct sequencing 法により検討した。最初に、自閉症、正常対照からそれぞれ 8 検体のリンパ芽球様細胞株を選んだ。

発現量の検討

DNA メチル化解析により自閉症と正常対照で差がある可能性のある 46 遺伝子について遺伝子発現を検討した。リアルタイム PCR 法による遺伝子発現定量解析を行った。遺伝子発現定量解析には、自閉症 33 検体、正常 32 検体のリンパ芽球様細胞株を使用した。

（倫理面への配慮）

本研究は、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」（平成 13 年 3 月 29 日 文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第 1 号）に従い、東京大学医学部、東海大学医学部、鳥取大学医学部の倫理委員会の承認を得て行った。HOXA1 遺伝子の研究は鳥取大学組換え DNA 安全委員会の承認を得ている。レット症候群の解析に使用した検体は愛媛大学・鳥取大学にて倫理審査を経て、研究への使用が承認されたものである。試料提供を受ける際には口頭および文書で十分な説明を行い、研究への使用の明確な同意を得たものである。

C. 研究結果

HOX 遺伝子群のアミノ酸リピート多型の解析

NCBI データベースから HOXA 群および

D 群遺伝子のアミノ酸リピートが存在する領域かを選び出し、予備的に自閉症 30 と正常対象 60 の解析を最初に行った。その結果、多型が存在する領域を同定した（表 1）。その領域について自閉症サンプル 100 以上、正常対象 300 以上で解析を進めた。HOXA2、HOXD8、HOXD13 のアラニンリピート多型の解析結果をそれぞれ表 2、3、4 に示す。HOXA2 のアラニンリピートは自閉症家系の数例のみに見出された。

表 1 HOX 遺伝子群の多型の検討

Gene	CPG domain	Genotype (bp)	Variation type	Autism n	Control n	Pathogenic probable
HOXA2	Alanine	159-159	Yes	31	69	+
		153-159	Deletion	1	0	
HOXA10	Glycine	330-330	Yes	39	69	
		148-158	Yes	32	69	
HOXA11	Alanine	353-353	Yes	32	69	
HOXA13	Alanine	190-190	Yes	31	59	+
		172-190	Deletion	6	1	
HOXA24	Serine	276-279	Yes	27	69	-
HOXA25	Alanine	423-423	Yes	23	59	1
		423-426	Expansion	1	1	
		357-357	Yes	31	69	-
HOXA29	Glycine	307-307	Yes	27	69	-
HOXD13	Glycine Alanine	287-287	Yes	28	59	+
		329-327	Deletion	0	1	
HOXD15	Alanine Serine	329-329	Yes	26	69	+
		317-329	Deletion	1	0	

表 2 HOXA1 の結果

Genotype (bp)	Variation type	Autism family		Normal control
		Autistic patient	Patient	
159-159	Wild type (9 Ala)	104 (97%)	208 (99%)	364
153-159	Deletion (-7 Ala)	1 (0.95%)	0	0
156-159	Deletion (-3 Ala)	1 (0.95%)	1 (0.47%)	0
159-162	Expansion (+3 Ala)	1 (0.95%)	1 (0.47%)	0
Total		107	211	364

表 3 HOXD8 の結果

Genotype (bp)	Variation type	Autism family		Normal control
		Autistic patient	Patient	
423-423	Wild type (9 Ala)	105 (95.5%)	208 (98.6%)	355 (97.5%)
405-423	Deletion (-3 Ala)	0	0	2 (0.55%)
417-423	Deletion (-7 Ala)	0	0	2 (0.55%)
426-423	Deletion (-8 Ala)	1 (0.91%)	0	1 (0.27%)
423-426	Expansion (+3 Ala)	4 (3.64%)	3 (1.42%)	0
423-429	Expansion (+11 Ala)	0	0	1 (0.27%)
423-441	Expansion (+15 Ala)	0	0	3 (0.82%)
Total		110	211	364

表 4 HOXD13 の結果

Genotype (bp/bp)	variation type	Autism family		control
		Artistic patient	parent	
329/329	wild type(15 Ala)	71(97.3%)	117(98.3%)	293(99.4%)
317/328	deletion (11 Ala)	2(2.7%)	2(1.7%)	1(0.3%)
326/329	deletion (14 Ala)	0	0	1(0.3%)
Total		73	119	295

HOXA1 遺伝子のヒスチジン長多型の検討

正常 HOXA1 蛋白質（10 ヒスチジンリピート）は核内に均一に局在するのに対し、伸長多型 11、12 リピートは核内に凝集体を形成した（図 1）。この凝集体形成はラパマイシン添加により抑制された（図 2）。HOXA1 転写活性は伸長多型 11、12 リピートで正常に比べ顕著な活性低下が見られた（図 3）。また、レチノイン酸誘導神経細胞分化は、7、11、12 リピート多型において抑制された（図 4）。

図 1

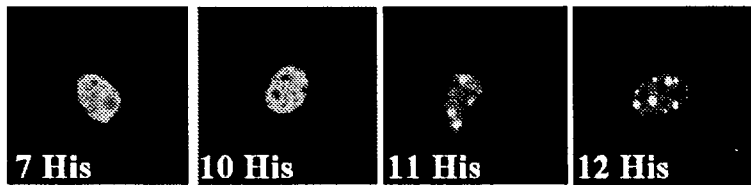


図 2

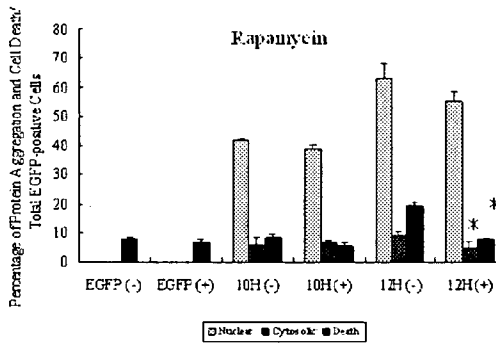


図 3

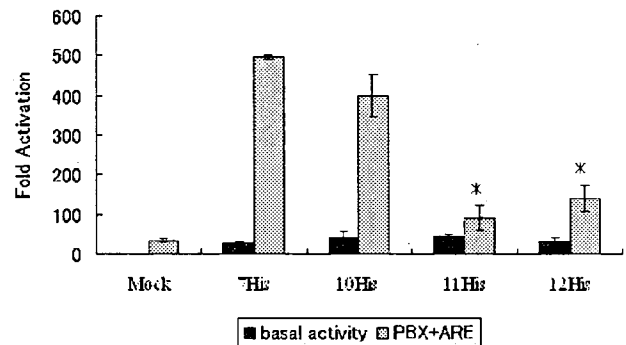
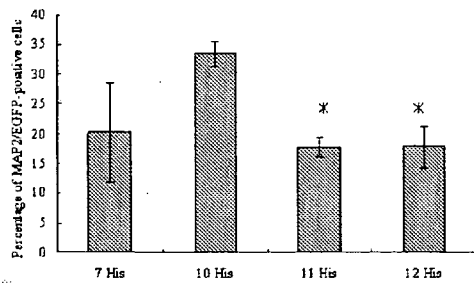


図 4



レット症候群の検討

レット症候群患者由来のリンパ芽様細胞 40 検体のうち、DLX5 遺伝子の刷り込み状態の解析が可能な多型は 12 検体にみられた。これら 12 検体のうち 5 検体は MBD 内に、6 検体については TRD 内に、残り 1 検体については MBD と TRD の間の領域に変異を有していた。MECP2 遺伝子のアレル特異的な発現を解析したところ、解析可能な 12 検体のうち 7 検体において、変異 MECP2 アレルの発現がみられなかった。DLX5 遺伝子内の C7/C8 一塩基リピート多型を利用した発現解析では、12 検体のうち 5 検体で刷り込み異常が生じ父性の刷り込みが失われていた。特に変異アレルの発現の最も強かった TRD ドメイン内に変異をもつ検体 RTT217 では DLX5 の刷り込みが完全に消失し、両アレル発現を示していた。

DNA メチル化解析

DNA メチル化解析の結果、84 遺伝子は正常対象、自閉症検体ともにメチル化をほとんど受けなかった（非メチル化）。5 遺伝子では、正常対象、自閉症検体ともにメチル化を強く受けていた。ゲノム刷り込み遺伝子の存在を示唆する differentially methylated region (DMR)

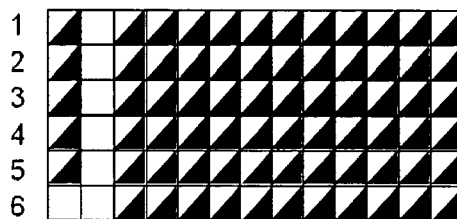
(図 5) を示す遺伝子は既知の刷り込み遺伝子を含め 10 存在した。また、半数以上の検体でメチル化出現率が 10% を超える領域を「メチル化様式に個体差を認める領域」(Methylation Variable Positions 図 5) と定義すると、2 番染色体に 7 箇所、7 番染色体に 13 箇所、15 番染色体に 5 箇所、その他の染色体上に 13 箇所の計 38 箇所がそれにあてはまった。これら個体

差を認めた領域をもつ遺伝子、刷り込み候補ならびに既知の刷り込み遺伝子、計 48 遺伝子についてリンパ芽球様細胞株での遺伝子発現を検討した結果、33 転写物が解析可能であった。自閉症 33 検体、正常 32 検体を用い、リアルタイム PCR 法による発現量の比較解析を行ったところ、これまでに 2 遺伝子において罹患群における有意な発現量の低下を、3 遺伝子については有意な発現量の上昇を認めている。その例を図 6 に示す。現在さらに多くの検体で解析を検討中している。

図 5

Candidate of differentially methylated region (DMR)

Sample No.



Methylation Variable Positions

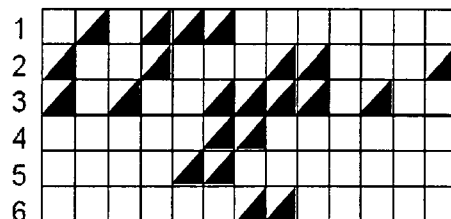
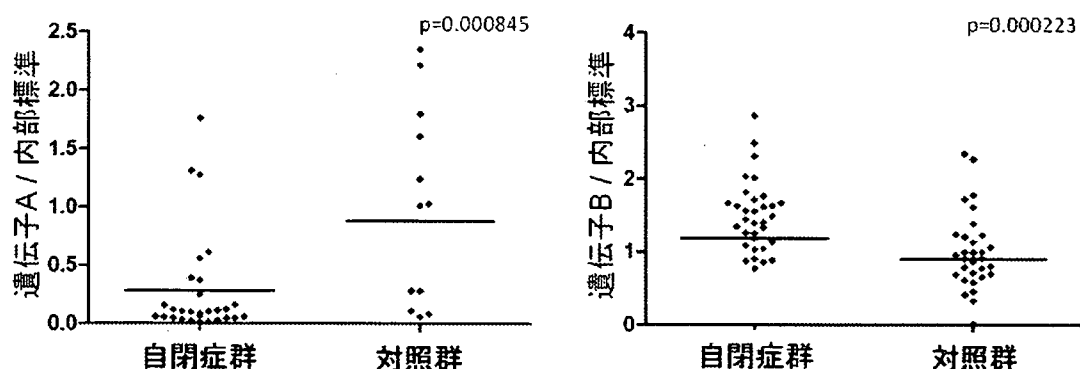


図 6



D. 考察

HOX 遺伝子群のアミノ酸リピート多型の解析

今回の解析では、いずれもアラニンリピートが多型を示し、HOXA2 では自閉症の一部と関連するかもしれない結果が得られた。アラニンは疎水性の無極性のアミノ酸であり、ヒトにおけるポリアラニンを含むタンパク質は 494 個報告されている。HOX 遺伝子は番号の若い 3'側の遺伝子ほど発生初期に 3'側の遺伝子ほど発生の初期に胚の頭部で、5'側ほど後期に胚の尾部で発現している。HOX 遺伝子の変異によるヒトの疾患は A13 と D13 など報告されているが、ともに四肢の奇形を生じる。また、これらの変異はともにアラニンリピートの延長であり、あらたなアミノ酸リピートによる疾患としても注目されている。アラニンリピートの延長による疾患は、この他に X 連鎖性精神遅滞と関連する ARX や SOX3 遺伝子などもあり、精神神経疾患の原因としても重要と考えられる。さらに自閉症では指の長さ 2D/4D の比が自閉症の生物学的マーカーになる可能性の報告がある。HOXD13 遺伝子などは、四肢の形成にも関連

しており興味深い。今までの我々の研究では、自閉症の一部に特異的な異常をもつ可能性は見出してきているが、多くの自閉症の遺伝的背景を検討するためには、さらに様々な方向からの検討が必要かもしれない。

染色体 2 番と 7 番の DMR 領域の同定

今回の検討でも、すべての検体が一致する明らかなゲノムインプリンティングと考えられる遺伝子は少なく、RELN, WNT2, LAMB1 などの遺伝子においてもメチル化状態が検体間で異なっている場合があった。芽球化の影響なども考えられるが、メチル化の個人差が疾患と関連する化膿性もあり、今後の検討が重要になる。これらの遺伝子の中で、RELN はシナプスの形成や軸索の分岐など神経発達に重要な役割を担い、統合失調症患者の脳組織検体を用いたメチル化解析においてはプロモーター領域の一部の CpG 部位が高度にメチル化を受けることが報告されている。さらに自閉症患者の脳組織検体においては、RELN の mRNA および蛋白量が低下しているとの報告もあり今後の健闘が重要になる。2 番染色体長

腕上の *HOXD4*、*HOXD9*、*HOXD10* の解析では、インプリンティング遺伝子の存在を示唆する DMR と考えられた。これらの遺伝子ではアミノ酸リピート多型は見出されなかったが、自閉症との関連が注目されるため、さらに解析を進める予定である。

HOXA1 遺伝子のヒスチジン長多型の検討

HOXA1 ポリヒスチジン伸長多型による核内凝集体形成と細胞死の促進は細胞質分解系オートファジーにより制御される。また、伸長多型では PBX1 結合転写活性が低下し、神経分化の抑制が見られた。これらはヒスチジン長伸長多型が HOXA1 遺伝子機能の欠損した多型であることを示す。今後、マウスモデルの作製することにより、個体に対する機能解析を行う必要がある。また、他 HOX 遺伝子に見られたポリアラニン長多型についても同様の解析を行っている。

レット症候群の検討

MECP2 遺伝子のアレル特異的な発現解析では、MBD 内に変異を有する検体の 8 割で変異 MECP2 アレルの発現が消失していた。これは X 賦活化の影響も考えられるが、今回と同一検体で検討されたアンドロジェン受容体の解析からは否定的である。むしろ *Mecp2*^{308Y} マウス由来神経の初代培養や患者由来 T リンパ球のクローン化などの研究結果から示されるように、MBD 内の変異により細胞増殖が抑制されると考えられた。そのために、MBD 内に変異を有する検体では DLX5 遺伝子の刷り込み異常の検討が困難であった。一方、TRD 内に変異を有する検体では変異 MECP2 アレルの発現が強いほど DLX5 遺伝子の刷り込みに異常

が生じる傾向が認められた。この結果は、TRD 内ではなく MBD 内の変異により DLX5 遺伝子の刷り込み異常が生じるとした既報告とは異なっていた。これは、培養条件の違いによって生じた可能性があり、今後リンパ球などの直接の患者検体などの検討も必要と考えられた。DLX5 遺伝子そのものの刷り込み異常を今後自閉症でも解析する意義があると考えられた。

メチル化の検討

エピジェネティクスに注目して研究を行っているが、ゲノムインプリンティングを示す遺伝子は決して多くないことが明らかになってきている。しかし、今回の検討でメチル化の個体差を示す遺伝子が多数あることが明らかになり、それらの遺伝子に注目して研究を進めた。CpG アイランド領域のメチル化の変化は、遺伝子発現を変化させ疾患を引き起こす直接の引き金になることが予想される。今回、個体差を示した遺伝子を検討したところ 5 遺伝子で自閉症と正常対象の間で遺伝子発現に差があることが示された。これらの遺伝子は自閉症の発症に直接関わる重要な遺伝子と考えられるが、芽球化や培養による遺伝子発現変化の可能性、また性差や年齢など多くの要因も加味してさらに慎重に検討を行う必要がある。近年、さまざまな疾患がメチル化の個人差によって発症する可能性が示唆されており、そのためにエピゲノムプロジェクトも立ち上がっている。

今後さらに検討を行い、自閉症の診断や治療法の開発を行ってゆく予定である。

E. 結論

1. HOX 遺伝子のアミノ酸リピートの解析は自閉症の一部に関連するかもしれないが、今後さらに検討が必要である。
2. HOXA1 遺伝子のヒスチジンリピートの多型は自閉症の原因にはならなかったが、神経細胞の分化異常を呈するなど興味深い影響をもたらした。
3. レット症候群での DLX5 遺伝子解析は MECP2 の TRD 内の異常により刷り込み異常を呈する可能性が示された。
4. エピジェネティクスに重要な 2,7,15 番染色体のメチル化の解析を行った。
5. 検討した 151 遺伝子のうち 10 遺伝子が刷り込み候補、38 遺伝子に個体差が認められた。
6. 個体差を示す 5 遺伝子で自閉症に有意な遺伝子発現量の変化が認められた。
7. 今後、メチル化の個体差に着目し研究を進める。

G. 研究発表

1. 論文発表

Koishi S, Yamamoto K, Matsumoto H, Koishi S, Enseki Y, Oya A, Asakura A, Aoki Y, Atsumi M, Iga T, Inomata J, Inoko H, Sasaki T, Nanba E, Kato N, Ishii T, Yamazaki K. Serotonin transporter gene promoter polymorphism and autism: A family-based genetic association study in Japanese population. *Brain Dev.* 2006 May;28(4):257-60.

Paraguison RC, Higaki K, Sakamoto Y, Hashimoto O, Miyake N, Matsumoto H, Yamamoto K, Sasaki T, Kato N, Nanba E. Polyhistidine tract expansions in HOXA1

result in intranuclear aggregation and increased cell death. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005 Nov 4;336(4):1033-9.

Marui T, Koishi S, Funatogawa I, Yamamoto K, Matsumoto H, Hashimoto O, Nanba E, Kato C, Ishijima M, Watanabe K, Kasai K, Kato N, Sasaki T. No association of FOXP2 and PTPRZ1 on 7q31 with autism from the Japanese population. *Neurosci Res.* 2005 Sep;53(1):91-4.

Paraguison RC, Higaki K, Yamamoto K, Matsumoto H, Sasaki T, Kato N, Nanba E. Enhanced autophagic cell death in expanded polyhistidine variants of HOXA1 reduces PBX1-coupled transcriptional activity and inhibits neuronal differentiation. *J Neurosci Res.* 2007 Feb 15;85(3):479-87.

Kato C, Tochigi M, Koishi S, Kawakubo Y, Yamamoto K, Matsumoto H, Hashimoto O, Kim S-Y, Watanabe K, Kano Y, Nanba E, Kato N, Sasaki T. Association study of the commonly recognized breakpoints in chromosome 15q11-q13 in Japanese autistic patients. *Psychiatric Genet* (in press)

Kato C, Tochigi M, Ohashi J, Koishi S, Kawakubo Y, Yamamoto K, Matsumoto H, Hashimoto O, Kim S-Y, Watanabe K, Kano Y, Nanba E, Kato N, Sasaki T. Association study of the 15q11-q13 maternal expression domain in Japanese autistic patients. *Am J Med Genet Part B*

- (Neuropsychiatric Genet) (in press).
- Francks C, Maegawa S, Laurén J, Abrahams BS, Velayos-Baeza A, Medland SE, Colella S, Groszer M, McAuley EZ, Caffrey TM, Timmusk T, Pruunsild P, Koppel I, Lind PA, Matsumoto-Itaba N, Nicod J, Xiong L, Joobar R, Enard W, Krinsky B, Nanba E, Richardson AJ, Riley BP, Martin NG, Strittmatter SM, Möller HJ, Rujescu D, St Clair D, Muglia P, Roos JL, Fisher SE, Wade-Martins R, Rouleau GA, Stein JF, Karayiorgou M, Geschwind DH, Ragoussis J, Kendler KS, Airaksinen MS, Oshimura M, Delisi LE, Monaco AP. LRRTM1 protein is located in the endoplasmic reticulum (ER) in mammalian cells. *Mol Psychiatry*. 2007;12(12):1057.
- Tochigi M, Kato C, Koishi S, Kawakubo Y, Yamamoto K, Matsumoto H, Hashimoto O, Kim SY, Watanabe K, Kano Y, Nanba E, Kato N, Sasaki T. No evidence for significant association between GABA receptor genes in chromosome 15q11-q13 and autism in a Japanese population. *J Hum Genet*. 2007;52(12):985-9.
- Francks C, Maegawa S, Laurén J, Abrahams BS, Velayos-Baeza A, Medland SE, Colella S, Groszer M, McAuley EZ, Caffrey TM, Timmusk T, Pruunsild P, Koppel I, Lind PA, Matsumoto-Itaba N, Nicod J, Xiong L, Joobar R, Enard W, Krinsky B, Nanba E, Richardson AJ, Riley BP, Martin NG, Strittmatter SM, Möller HJ, Rujescu D, St Clair D, Muglia P, Roos JL, Fisher SE, Wade-Martins R, Rouleau GA, Stein JF, Karayiorgou M, Geschwind DH, Ragoussis J, Kendler KS, Airaksinen MS, Oshimura M, Delisi LE, Monaco AP. LRRTM1 on chromosome 2p12 is a maternally suppressed gene that is associated paternally with handedness and schizophrenia. *Mol Psychiatry*. 2007;12(12):1129-39.
- Marui T, Koishi S, Funatogawa I, Yamamoto K, Matsumoto H, Hashimoto O, Ishijima M, Nanba E, Nishida H, Sugiyama T, Kasai K, Watanabe K, Kano Y, Kato N, Sasaki T. No association between the neuronal pentraxin II gene polymorphism and autism. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2007;31(4):940-3.
- Florice F, Higaki K, Maki H, Nanba E, Ninomiya H, Ohno K. Antisense suppression of TSC1 gene product, hamartin, enhances neurite outgrowth in NGF-treated PC12h cells. *Brain Dev*. 2007;29(8):502-9.
- Marui T, Funatogawa I, Koishi S, Yamamoto K, Matsumoto H, Hashimoto O, Nanba E, Nishida H, Sugiyama T, Kasai K, Watanabe K, Kano Y, Kato N, Sasaki T. Tachykinin 1 (TAC1) gene SNPs and haplotypes with autism: a case-control study. *Brain Dev*. 2007;29(8):510-3.
- Itaba-Matsumoto N, Maegawa S, Yamagata H, Kondo I, Oshimura M, Nanba E. Imprinting status of paternally imprinted